

機関番号：34519

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：20790467

研究課題名 (和文) 覚せい剤誘導性ドパミン増加に対するエタノールの作用とアルコール嗜好性の関与

研究課題名 (英文) Effects of ethanol on methamphetamine-induced dopamine release in high and low alcohol preference rats.

研究代表者 内海 美紀 (UTSUMI MINORI)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：50351797

研究成果の概要 (和文)：アルコール嗜好性の異なる2系統のラット線条体における、D1 および D2 受容体アンタゴニスト前処置後のメタンフェタミン (MAP) 誘導性のドパミン (DA) およびセロトニン変化について検討した。D1 受容体アンタゴニストであるハロペリドールを前処置した場合、両系統ともにコントロールに比して DA 増加率は有意に上昇した。しかし、D1 受容体アンタゴニストである SCH23390 を前処置した場合、アルコール嗜好性の高い HAP ラットでのみ顕著な増加が確認された。これは MAP の線条体における作用点のうち、アルコール嗜好性との関与が顕著であるのは D1 受容体を介した DA-pathway であることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Changes in dopamine and serotonin release induced by MAP (1 mg/kg, intraperitoneally) after pretreatment with D1 and D2 receptor antagonists were examined in the striatum of rats with different alcohol preferences to elucidate differences in receptor levels between the two rat strains. With haloperidol treatment both strains rats showed a significantly greater maximum increase on MAP-induced dopamine release compared with respective control rats. However, after SCH23390 treatment only HAP rats showed a significantly greater increase in dopamine release compared with controls. These data suggested that alcohol preference is associated with the action of MAP, and the dopaminergic mechanism, specifically the D1 system in the striatum, might have a different pathway dependent on alcohol preference.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・法医学

キーワード：メタンフェタミン

## 1. 研究開始当初の背景

近年、大きな社会問題となっている薬物乱用のうち、覚せい剤については「第3次覚せい剤乱用期」といわれ、その深刻な情勢は依然として継続している。我々は、覚せい剤 (methamphetamine、以下MAP)によって異常精神症状を発現する率はアルコール嗜癖者に多いことから、両薬物間で何らかの相互作用があることを強く示唆してきた。

MAPによって引き起こされる中枢作用は特に中脳辺縁系(腹側被蓋野一側坐核)および黒質一線条体系DA神経系の伝達増強が重要であるといわれ、MAP乱用者にみられる「覚せい剤精神病」と呼ばれる精神症状発現に関してもこのDA神経系が大きく関与していることが注目されている。しかしながらどのような機序でDA神経系が異常興奮状態になり、精神病を呈するに至るかについては未だ十分には解明されていない。乱用薬物の代表であるMAPにおける依存形成の機序について調査することは、アルコールをはじめ、様々な乱用薬物による依存症のメカニズムの解明と、中毒患者の治療に役立てるものと考えている。

## 2. 研究の目的

これまで我々はアルコール嗜好性の異なる2系統のラットを用いた実験で、

(1) MAPによって誘導される常同行動の活性についてアルコール嗜好性の違いで薬理的な相違が見られている

(2) 急性MAP投与後の脳内線条体および側坐核における細胞外液中ドパミン(DA)およびセロトニン(5-HT)濃度が異なる

(3) 急性アルコール投与時と、慢性アルコール投与時では、MAP誘導性の脳内線条体

内DAおよび5-HTの動態がそれぞれ大きく異なる、等の結果を得ている。

さらに平成18-19年度に交付された科学研究費補助金(若手研究B)により行った追実験により

(4) アルコール嗜好性といわれる遺伝的相違は、線条体におけるDA(特にD1)神経系における相違である(5-HT神経系の関与は低い)という結果を得た。

これらの結果をもとに、線条体のD1受容体およびDAのnegative-feedback機構であるDA transporter (DAT)や自己受容体(シナプス前D2受容体)に焦点を絞り、その遺伝子発現率等、分子レベルでのアプローチをメインに覚せい剤精神病のメカニズムと、その形成へのアルコール嗜好性の関与について明らかにすることが目的である。

## 3. 研究の方法

### ○脳内微小透析法

(brain-microdialysis): MAPの大量単回投与および大量頻回投与後、実験当日MAPを腹腔内投与し、その後の線条体内神経伝達物質の動態とMAPの暴露の影響について検討する。回収貯留した灌流液は電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィー(ECD-HPLC)に5分毎に連続注入し、灌流液中のDAおよび5-HTの同時測定を行う。

⇒ ⇒ ⇒ 3群におけるHAP、LAP両系統間のDA、5-HT動態経時変化は、いずれもMAP投与直前の測定値(0min)を基本値とした値に対する経時的増加率変化で表し、HAP、LAPの系統間におけるMAP単回および頻回投与の影響を比較検討する。

#### ○逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応法

(RT-PCR)およびPCR法：脳内微小透析法を行った後、それぞれの実験群の全てのラットから肝臓および線条体の組織を採取し、その組織に発現しているD1、D2受容体およびDATの遺伝子発現量の相違を検討する。

⇒ ⇒ ⇒両系統ラット間における相違が、D1受容体で確認されれば、後シナプスへの情報伝達への影響が、またDAT や自己受容体 (シナプス前D2受容体)で確認されれば、前シナプスへのnegative-feedback機構への影響が考えられる。

#### 4. 研究成果

乱用薬物の強化作用にとって重要な神経回路となっている黒質-線条体系ドパミン(DA)神経系を中心に、メタンフェタミン(MAP)によって引き起こされるDA神経細胞の変化と、それに関与すると考えられるアルコール嗜好性の遺伝的相違について検討した。

平成21年度はアルコール嗜好性の異なる2系統ラットに対して、(1) 脳内微小透析法 (brain-microdialysis)を用いた動物実験で、MAP投与による線条体ドパミンおよびセロトニンの動態変化 (2) MAP投与前の基底状態で線条体内のDopamine Transporter (DAT)のm-RNA発現量の系統差 (3) MAP投与後(10mg/kg, i. p. 投与から24時間後)の線条体内DATのm-RNA発現量の系統差とその増減等を検討した。

その結果、アルコール嗜好性といわれる遺伝的な相違には、線条体のドパミン(特にD1)神経系が関与している可能性が高く(1)、DATの関与も否定できないが、基底状態のDATのmRNA発現量に系統差は確認されなかった(2)。MAP投与後については、ばらつきが大きく、再現性の高い結果を得ることができなかった

(3)。

そこで平成22年度は線条体内DATのm-RNA発現量についてさらに精査するため以下の追実験を行った。それは(4) 受容体関連のm-RNAは薬物投与から比較的短時間で誘導・発現することから、採取時間を増やし薬物投与から3、6、24時間後に線条体を採取した後、m-RNA量を測定した。(5) DAの授受に関与するD1およびD2受容体についても両系統間でm-RNA発現量に差が生じていないか確認した。

その結果、両系統ともに「m-RNA発現量は薬物投与から3時間後が最も高く、その後徐々に減少し、24時間後に最も低い値となった。しかし24時間後の減少率はアルコール嗜好性の高いラットで大きかった」という結果を得た。これは放出されたDAが再取り込みされず、神経伝達が高まりup-regulateする可能性を示唆している(4)。一方D1、D2受容体に関しては、両系統で差はなく同様の推移を示した(5)。これらの結果をもとに、今後は次の発現段階であるタンパク質発現に関して検討し、DATや受容体の密度差あるいは機能差について精査したいと考えている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

(1) Minori Nishiguchi, Hiroshi Kinoshita, Shogo Kasuda, Motonori Takahashi, Takehiko Yamamura, Kiyoshi Matsui, Harumi Ouchi, Takako Minami, Shigeru Hishida, Hajime Nishio. Toxicology Mechanisms and Methods, 査読有, 2010; 20(3):127-132. Effects of Dopamine Antagonists on Methamphetamine-Induced Dopamine Release in High and Low Alcohol Preference Rats.

〔学会発表〕（計 1 件）

(1) 第 94 次日本法医学会学術全国集会：西口美紀 他、ラット線条体内ドパミントランスポーターとアルコール嗜好性との関連、2010 年 6 月 25 日、東京。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

内海 美紀 (UTSUMI MINORI)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：50351797

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：